

中华蜜蜂工蜂王浆腺活性的变化*

杨冠煌 王瑞武

杜芝兰

(中国农业科学院养蜂研究所, 北京 100093) (北京大学生物系, 北京 100871)

摘要 本试验以短期体外放射化学测定法, 测定了中华蜜蜂 (*Apis cerana cerana*) 工蜂的王浆腺 (HP) 的活性, 以意大利蜂 (*Apis mellifera ligustica*) 进行对比。结果表明工蜂的 HP 在体外培养液中 1—6 小时掺入的放射性 DPM 几乎呈直线增加。春夏繁殖期, 中华蜜蜂 7 日龄工蜂的 HP 活性最强, 而意大利蜜蜂是 10 日龄。中华蜜蜂的越冬工蜂的 HP 虽呈发育状态, 但活性低。而在早春, 当蜂群内部出现幼虫时, 越冬工蜂的 HP 又呈现活性。

关键词 中华蜜蜂 意大利蜜蜂 王浆腺活性

蜜蜂王浆腺又叫咽下腺 (Hypopharyngeal gland, 简称 HP), 一对位于工蜂头部的泡状腺体, 是合成、分泌王浆物质的主要器官。这种合成、分泌王浆物质的能力称为王浆腺的活性 (HP activity)。Hassanein (1952) 对意大利蜜蜂工蜂的 HP 的腺泡大小进行测量, 他认为腺泡越大, 活性越高。Fluri (1982) 提出以腺体的重量作为活性指标。以上作者的观点具有明显的片面性, 如越冬工蜂的王浆腺很肥大, 但不分泌王浆。Brouwers (1982) 把王浆腺进行体外培养, 添加 ^{14}C -亮氨酸标记测出 HP 合成王浆物质的能力作为活性指标。他在意大利蜜蜂工蜂上测定结果表明, 这是一种客观、可行的测定 HP 活性方法。

本试验采用 Brouwers 的测定方法, 但改用 ^3H -亮氨酸进行标记。研究中华蜜蜂工蜂王浆腺活性与日龄、季节的变化, 并以意大利蜜蜂作对比。今报道结果如下。

材料与方 法

1. 中华蜜蜂购自北京市房山县。意大利蜜蜂来自中国农科院养蜂研究所蜂场。使用丙酮溶解赛璐珞加颜色制成的胶水对刚羽化的工蜂 (0—12 小时) 进行标记, 然后放入原蜂群, 供测定不同日龄工蜂王浆腺活性状态使用。 ^3H -亮氨酸 (比强 122 居里/毫克分子) 购自中国科学院上海核技术开发公司。PP $^{\circ}$ (2,5-diphenyl-oxyazol) 闪烁体系上海试剂一厂生产。

王浆腺人工培养液的配方, 基本上采用 Brouwers 的配方, 只是把核黄素、生物素、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 的剂量减少一半。人工培养液制成后, 用 2mol/L KOH 把 pH 值调至 6.65, 抽滤 (0.2 微米的微孔滤膜) 后, 置冰箱 (4 $^{\circ}\text{C}$) 中保存。

蜜蜂生理盐水配方: 参照蜜蜂成蜂血淋巴的主要成分配制的生理盐水配方列入表 1。

本文于 1988 年 8 月 17 日收到。

* 本文系国家自然科学基金项目。

承肖京城、曾鸣同志帮助, 特此致谢。

表 1 蜜蜂生理盐水配方

成 分	剂量(克/升)
KCl	5.55
NaCl	0.88
CaCl	0.33
MgCl ₂ · 6H ₂ O	2.03
葡 萄 糖	10.00
果 糖	10.00
蔗 糖	5.00

2. 摘取工蜂王浆腺的方法：把工蜂置于 0℃ 中冷冻，取头部用 70% 乙醇溶液表面灭菌，再用三蒸水洗净残存乙醇，放在蜜蜂生理盐水中，在解剖镜下，解剖头部取出二条完整的王浆腺。

3. 王浆腺活性的放射性测定：把 HP 用无菌的蜜蜂生理盐水冲洗后，放入盛有 300 微升培养液的青霉素小瓶中，每瓶加入 4 微居里/微升的 ³H-亮氨酸 1 微升。盖紧橡皮塞置于 30℃ 中培养。培养结束时用 300 微升含 20 毫克分子亮氨酸的 20% 三氯乙酸溶液加入培养液中混和，以终止 ³H-亮氨酸的掺入。然后取出王浆腺组织反复用 7% 的三氯乙酸和蒸馏水冲洗，再放入小试管中，加入 200 微升高氯酸和 400 微升过氧化氢，用橡皮膏封口，在 70—80℃ 的干燥箱中消化 40—50 分钟，中间振动 1—2 次，冷却至室温。取 100 微升已消化的王浆腺液，放入闪烁杯中，加入 1.5 毫升乙二醇独乙醚助溶，最后加 5 毫升甲苯闪烁液，放入 LKB 液体闪烁计数器测定放射性。以每分钟衰变数 DPM 表示。测出的数值反映王浆腺从培养液中掺入 ³H-亮氨酸保留在腺体内的数量，以 I-DPM (In-DPM) 表示，王浆腺分泌在营养液的王浆物质中的 ³H-亮氨酸数量以 O-DPM (Out-DPM) 表示。因此王浆腺在培养过程中掺入放射物质总量是 I-DPM 与 O-DPM 之和。

O-DPM 的测定方法：把取出王浆腺的培养液倒在滤纸上（直径 25 毫米），抽气过滤，然后用 7% 的三氯乙酸冲洗 5 次、95% 乙醇冲洗 4 次后，把滤纸片放入含 7 毫升甲苯闪烁液的闪烁杯中，用 LKB 液体闪烁计数器测定放射性。本试验以 I-DPM 和 O-DPM 同时作为王浆腺的活性指标。

结 果

一、不同培养时间中华蜜蜂工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 的变化

从蜂群中取 7 日龄的中华蜜蜂和意大利蜜蜂的工蜂各 30 只，摘取王浆腺分别放入 30 个培养瓶中，每隔 1 小时分别测定 5 个王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值。结果见图 1。

从图 1 表示王浆腺的活性变化，显示出 1—6 小时 HP 的活性几乎呈直线上升。I-DPM 显示出中华蜜蜂与意大利蜜蜂几乎是同步上升。但 O-DPM 显示出意大利蜜蜂从第 2 小时起比中华蜜蜂有较大幅度上升。根据这种结果，我们在以下的实验内容均以王浆腺的活性直线上升时第 4 小时作为测定时间。

二、不同日龄工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 的变化

取 1、4、7、10、13、16、19 日龄和巢外采集蜂的中华蜜蜂和意大利蜜蜂的工蜂各 5 只进行 I-DPM 和 O-DPM 的测定。结果见图 2。

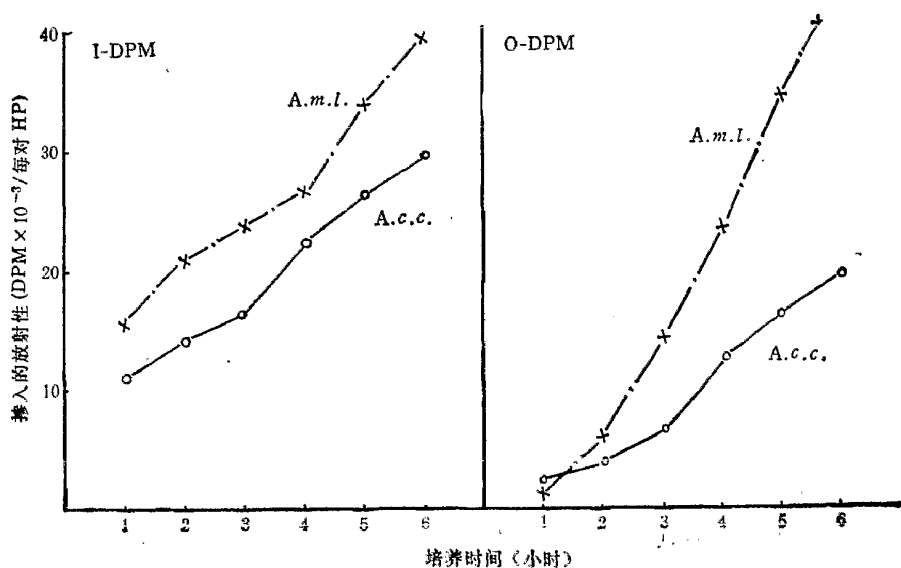


图 1 不同培养时间王浆腺掺入的 DPM 变化
A. c. c. 为中华蜜蜂 A. m. l. 为意大利蜜蜂

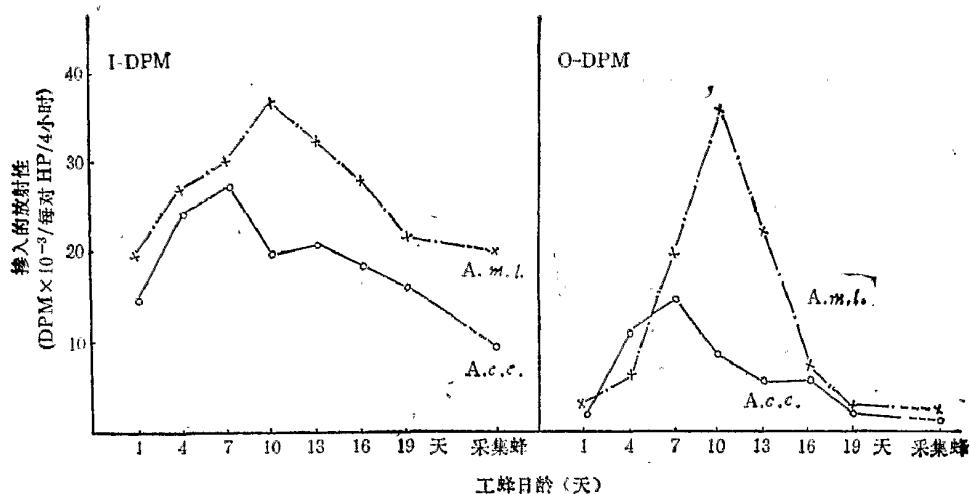


图 2 不同日龄工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 的变化
A. c. c. 为中华蜜蜂 A. m. l. 为意大利蜜蜂

从图 2 中显示: 中华蜜蜂工蜂 1 日龄的 I-DPM 值很小, 1—4 日龄迅速增加, 4—7 日龄上升变缓, 7 日龄达到高峰, 以后随日龄的增加 I-DPM 值平缓而波动下降, 至 19 日龄已接近采集蜂的水平。意大利蜜蜂工蜂 10 日龄的 I-DPM 才达到高峰, 以后平缓下降至 19 日龄已接近采集蜂的水平。但各日龄的 I-DPM 值均高于中华蜜蜂。O-DPM 的最高值中华蜜蜂在 7 日龄、意大利蜜蜂在 10 日龄。两个蜂种工蜂王浆腺的 O-DPM 最高值的差距比 I-DPM 大。

三、冬季越冬工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值

1987 年 1 月 13 日从越冬的蜂群内随机取出工蜂 10 只, 测定王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值。并以意大利蜜蜂作对比。结果列入表 2。

表 2 的数值表明: 中华蜜蜂和意大利蜜蜂的越冬工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值均很低。然而王浆腺体是处于发育状态。

四、早春, 蜂群内出现幼虫时越冬工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值

1987 年 4 月 1 日从中华蜜蜂和意大利蜜蜂群内取出去年越冬工蜂各 10 只, 测定 I-DPM 和 O-DPM 值。结果列入表 2。从表 2 数值表明, 两个蜂种早春的越冬老工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值均高于冬季处于越冬状态的工蜂。而两者王浆腺体的发育状态相同。

表 2 越冬工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM

取样日期 (年·月·日)	项 目	中华蜜蜂 $\bar{x} \pm s$	意大利蜜蜂 $\bar{x} \pm s$
越冬期 1987.1.13	I-DPM	12367.19 \pm 3677.93	14844.98 \pm 4734.93
	O-DPM	1697.76 \pm 203.62	2094.99 \pm 522.58
早春 1987.4.1	I-DPM	18860.18 \pm 5484.93	29793.45 \pm 9885.89
	O-DPM	3170.45 \pm 1252.56	5807.79 \pm 1837.87

讨 论

1. 从 I-DPM 的结果表明中华蜜蜂工蜂的 HP 在吸入外界营养合成王浆主要成分蛋白质的速度、数量上虽不如意大利蜜蜂, 但差距不大。然而 O-DPM 的结果却表明中华蜜蜂工蜂 HP 在分泌王浆物质的速度大大低于意大利蜜蜂。这种现象可能是中华蜜蜂生产王浆少的一个原因。测定的数值还表明中华蜜蜂工蜂的 HP 分泌高峰后依然能维持较高的活性状态, 而且个体之间差异比意大利蜜蜂大, 这反映出该蜂种还处于较野生状态, 可以通过人工选育和改进饲养技术提高 HP 分泌王浆的能力。

2. 中华蜜蜂和意大利蜜蜂越冬期工蜂的 HP 虽呈发育状态, 而活性很低。而到了早春, 当蜂群内出现幼虫时, 这些工蜂 HP 的活性立刻大幅度提高。这种结果表明 HP 的活性与发育状态没有直接关系, 而幼虫能够激发 HP 的活性。至于幼虫通过什么信息激发 HP 的活性, 有待进一步研究。

参 考 文 献

- Hassanein, M. H. 1952 The effects of infection with *Nosema apis* on the pharyngeal salivary glands of the worker honeybee. *Proc. R. Ent. Soc. Lond.* 27A: 22—7.
- Fluri, P. et al. 1982 Changes in weight of the hypopharyngeal gland and haemolymph titres of juvenile hormone, protein and vitellogenin in worker honeybee. *J. Insect physiol.* 28: 61—81.
- Brouwers, E. V. M. 1982 Measurement of hypopharyngeal gland activity in the honeybee. *J. Apicultural Res.* 21 (4): 193—8.

HYPOPHARYNGEAL GLAND ACTIVITY IN THE WORKERS OF *APIS CERANA CERANA*

YANG GUAN-HUANG WANG RUI-WU

(Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093)

DU ZHI-LAN

(Department of Biology, Beijing University, Beijing 100871)

The *in vitro* hypopharyngeal gland (HP) activity of the workers of *Apis cerana cerana* (*A.c.c.*) of different age and at different seasons was investigated with short-term radiochemical assay. The difference of the HP activities between *A.c.c.* and *Apis mellifera ligustica* (*A.m.l.*) was noticeable. The results are as follows: 1. The incorporation of ^3H -leucine by isolated HP and the portion secreted from the HP into the incubation medium were measured at different periods. It was seen that the rate of incorporation of ^3H -leucine was almost linear over a period of 6 hours. 2. During spring or summer, the activity of full-grown HP of the *A.c.c.* workers 7 days old was the highest while in the *A.m.l.* workers it was highest when they were 10 days old. 3. In winter, the HPs of overwintering *A.c.c.* workers are hypertrophied, but the glands isolated from such bees were found to display low activity. In the early spring when the colony started to breed, the HP of overwintering *A.c.c.* workers showed conspicuous variation in activity.

Key words *Apis cerana cerana*—*Apis mellifera ligustica*—hypopharyngeal gland activity